

ITW

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of

CAVALLINI et al

Serial No. 10/510,450

Filed: January 7, 2005



Atty. Ref.: ARC-4865-72

TC/A.U.: 1611

Examiner: Kudla

For: COMBINED USE OF L-CARNITINE, ACETYL L-CARNITINE AND PROPIONYL L-CARNITINE FOR THE TREATMENT OF OLIGOASTHENOTERATOSPERMIA

* * * * *

May 5, 2008

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS

It is respectfully requested that this application be given the benefit of the foreign filing date under the provisions of 35 U.S.C. §119 of the following, a certified copy of which is submitted herewith:

<u>Application No.</u>	<u>Country of Origin</u>	<u>Filed</u>
RM2002A000194	Italy	9 April 2002

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYE P.C.

By:

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Arthur R. Crawford".

Arthur R. Crawford
Reg. No. 25,327

ARC:eaw
901 North Glebe Road, 11th Floor
Arlington, VA 22203-1808
Telephone: (703) 816-4000
Facsimile: (703) 816-4100

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/IT03/000214

International filing date: 08 April 2003 (08.04.2003)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: IT
Number: RM2002A000194
Filing date: 09 April 2002 (09.04.2002)

Date of receipt at the International Bureau: 08 February 2005 (08.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not
in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

PCT/IT03/00214



Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
INVENZIONE INDUSTRIALE N. RM2002A000194 del 09.04.2002**

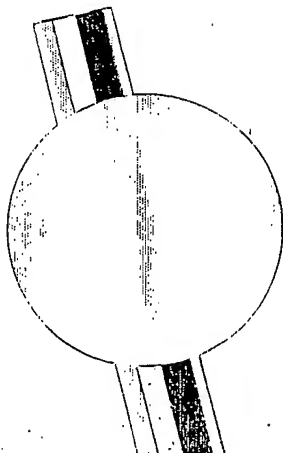
Si dichiara che l'unità copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

Roma, li. **01 FEB. 2005**

IL FUNZIONARIO

Ing. Giovanni de Sanctis

Giovanni de Sanctis



UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHE - ROMA
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

L'UFFICIALE ROGANTE
L'ufficiale Rogante

NUMERO DOMANDA

NUMERO BREVETTO

REG.

194

DATA DI DEPOSITO

09/04/2002

DATA DI RILASCIO

/ /

D. TITOLO

"Composizione utile per aumentare la concentrazione e la motilità degli spermatozoi e migliorarne la morfologia nell'uomo"

L. RIASSUNTO

Viene descritto l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina, o di un loro sale farmaceuticamente accettabile, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della oligoastenoteratospermia di qualsiasi origine.

M. DISEGNO

Descrizione dell'invenzione avente per titolo:

"Composizione utile per aumentare la concentrazione e la motilità degli spermatozoi e migliorarne la morfologia nell'uomo"

a nome: SIGMA-TAU HEALTHSCIENCE S.p.A.

di nazionalità: italiana

con sede in: Via Treviso 4, 00040 Pomezia RM

Inventori: Giorgio CAVALLINI, Giulio BIAGIOTTI, Aleardo KOVERECK, Francesca SARDELLI

---000---

La presente invenzione riguarda l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina, in associazione tra loro, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della oligo-astenoteratospermia di qualsiasi origine: infiammatoria, idiopatica, ormonale, o associata a varicocele.

La via finale comune di tutte queste forme di infertilità è l'accumulo locale di radicali liberi dell'ossigeno (Pasqualotto F. F. et al., Fertil. Steril. 73:459-464, 1999). Per contrastare questo accumulo possono venire usati farmaci antiossidanti.

La maggior parte degli antiossidanti attualmente disponibili sul mercato farmaceutico (vitamina E, glutathione, NADH) agisce in maniera non correlata al ciclo di Krebs, quindi in maniera correlata esclusivamente al dosaggio del farmaco e non al metabolismo cellulare.

L'elevata eterogenia topografica (all'interno del medesimo testicolo) e temporale della spermatogenesi umana (Silber S. J.,

Clin. Obstet. Gynaecol. 43:843-888, 1999) non permette un dosaggio "fisso" di antiossidanti, poiché si avrebbero comunque dei sovra o dei sotto-dosaggi.

Un eccessivo abbassamento dei radicali liberi dell'ossigeno porta alla inibizione della reazione acrosomale e di capacitazione degli spermatozoi (Ochendorf F. R., Hum. Reprod. Update. 5:399-402,1999), mentre una concentrazione troppo elevata porta ad alterazioni morfologiche dello spermatozoo stesso (Gattuccio F., et. al., Varicocele 2000, Cofese Editore, Palermo 2000).

In Human Reprod. 13:3090-3093, 1998, è stato proposto un punteggio semiquantitativo basato sui risultati ecodoppler per distinguere le azoospermie ostruttive da quelle non ostruttive.

In Human. Reprod. 15:2554-2558, 2000, viene riportato che la arteria testicolare transmediastinica ha un indice di resistività significativamente maggiore negli azoospermici non ostruttivi rispetto ai controlli ed agli oligoastenospermici.

In Fertil. Steril. 75:1088-1094, 2001, viene riportato che l'indice di pulsatilità della arteria testicolare è più alto nelle azoospermie ostruttive rispetto alle non ostruttive.

In J. Urol. 163:135, 2000, viene riportato che il flusso ematico e la velocità di flusso ematico intratesticolare sono significativamente inferiori nei soggetti con arresto maturativo della spermatogenesi, ovvero con ipoplasia delle cellule germinali.

Gli spermatozoi vengono prodotti nei testicoli e seguono una maturazione post-gonadale nell'epididimo per acquisire capacità

fertilizzante.

Nel plasma, proteine ad alto peso molecolare e piccole molecole come le carnitine libere favoriscono la maturazione dei gameti in cellule competenti e funzionali.

La L-carnitina epididimale, che proviene dal plasma, ha un effetto benefico sugli spermatozoi. Essa passa negli spermatozoi attraverso una diffusione passiva, e viene acetilata solamente negli spermatozoi maturi.

La relazione tra il pool endogeno di carnitine libere ed acetilate e la percentuale progressiva di motilità spermatica indicano una funzione metabolica più importante correlata con il movimento flagellare.

Quindi l'inizio della motilità spermatica, nell'epididimo, è probabilmente indipendente dal sistema carnitine mentre le proprietà energetiche dell'acetil L-carnitina sono rilevanti in situazione di "crisi energetica".

L'accumulo di carnitine libere nel citoplasma in spermatozoi maturi deve essere ritenuto una forma protettiva del metabolismo mitocondriale utile per la sopravvivenza di queste cellule isolate.

L'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina in associazione tra loro è già noto.

Nel brevetto europeo EP 0 973 415 viene descritta una composizione dietetica composta da L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina, utile per atleti sottoposti ad intenso sforzo fisico, o per individui astenici.

Nella domanda di brevetto WO 99/17623 viene descritta una composizione dietetica composta da L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina per il trattamento della sindrome da astinenza dell'alcolismo.

È altresì noto l'uso della L-carnitina e delle alcanoil L-carnitine per il trattamento della infertilità maschile.

In *Drugs Exptl. Clin. Res.* XXI(4):157-159, 1995, viene riportato che la somministrazione di L-carnitina, in un gruppo di pazienti con astenospermia idiopatica, migliora la motilità spermatica ed aumenta il numero degli spermatozoi in 37 pazienti sui 47 trattati.

In *Dermatol. Monatsschr.* 169:572-575, 1983, vengono confermati gli stessi risultati.

Su *Andrologia*, 26:155-159, 1994, viene riportato che la somministrazione di L-carnitina in pazienti infertili determina un significativo miglioramento sia in modo quantitativo che qualitativo della motilità degli spermatozoi.

Su *Fertilität* 4:1-4, 1988, viene riportato che la terapia con L-carnitina in pazienti infertili determina un aumento dei livelli di carnitina negli spermatozoi, ed un contemporaneo aumento della motilità e conta degli stessi.

Loumbakis P., et al. (XII° Congresso della European Association of Urology. Parigi, 1-4 Settembre, 1996) forniscono dati preliminari indicanti che la somministrazione di L-carnitina può influenzare positivamente la qualità degli spermatozoi.

Su Acta Eur. Fertil. 23(5):221-224, 1992, viene riportato che l'uso della acetil L-carnitina in pazienti affetti da oligoastenospermia idiopatica non ha nessun effetto sulla densità spermatica, ma provoca un aumento progressivo della motilità spermatica.

In US 6.090.848 viene riportato che l'associazione tra la L-carnitina e la acetil L-carnitina è utile per il trattamento della oligoastenoteratospermia.

I composti noti, sopra citati, sono certamente da considerare dei buoni presidi terapeutici, ma presentano tuttavia alcuni svantaggi.

Infatti, come sopra citato, in Drugs Exptl. Clin. Res. XXI (4):157-159, 1995, viene riportato che la somministrazione di L-carnitina in un gruppo di pazienti con oligoastenoteratospermia idiopatica migliora il numero degli spermatozoi ed aumenta la motilità degli stessi in 37 pazienti sui 47 trattati, mentre su Acta Eur. Fertil. 23(5):221-224, 1992, viene riportato che l'uso della acetil L-carnitina in pazienti affetti da oligoastenospermia idiopatica non ha nessun effetto sulla densità spermatica.

L'associazione descritta in US 6.090.848, che è da considerarsi la migliore ad oggi conosciuta, è stata utilizzata come composto di riferimento durante lo studio dell'attività dell'associazione secondo l'invenzione. I risultati ottenuti, di seguito riportati, hanno confermato l'attività della composizione descritta in US 6.090.848, ma hanno anche dimostrato che, sorprendentemente ed inaspettatamente, l'associazione secondo l'invenzione è più attiva, ed è

quindi un miglioramento rispetto alla composizione descritta in US 6.090.848.

In campo medico il bisogno di avere a disposizione composizioni utili per il trattamento della oligoastenoteratospermia, che non presentino gli svantaggi dei composti noti sopra citati, o che migliorino i risultati ottenuti con le migliori composizioni note in uso, è ancora molto sentito.

È stato ora trovato che l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o di un loro sale farmaceuticamente accettabile, in associazione tra loro, ha mostrato possedere un sorprendente effetto sinergico nel trattamento di tutte le forme di oligoastenoteratospermia.

È pertanto oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina sali interni o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della oligoastenoteratospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina sali interni o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della oligospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina sali interni o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della astenospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina sali interni o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della teratospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della oligoastenoteratospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della oligospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della astenospermia.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della teratospermia.

È stato trovato che l'associazione secondo l'invenzione è più attiva dell'associazione tra la L-carnitina e la acetil L-carnitina precedentemente citata, sia nel migliorare il numero che la motilità degli spermatozoi, nell'uomo.

La L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina possono essere in qualsiasi forma idonea alla somministrazione orale o parenterale nell'uomo.

La L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina possono essere formulate insieme, come una miscela, oppure possono essere formulate separatamente (confezionate separatamente), usando metodi noti. La L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina possono essere somministrate a un individuo sia quando sono in miscela tra loro che quando sono confezionate separatamente.

In base a vari fattori, quali la concentrazione dei principi attivi o le condizioni del paziente, l'associazione secondo l'invenzione può essere commercializzata come integratore alimentare, integratore nutrizionale, oppure come prodotto terapeutico in vendita con obbligo di ricetta medica o senza ricetta medica.

In accordo con la presente invenzione, il rapporto molare tra L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o un loro sale farmaceuticamente accettabile, è compreso tra 2,48:0,098:0,092 e 0,186:0,98:0,92.

Rapporti molari alternativi includono il rapporto molare compreso tra 2,48:0,49:0,46 e 0,62:0,49:0,46.

Rapporti molari alternativi includono il rapporto molare compreso tra 2,48:0,98:0,92 e 1,24:0,49:0,23.

La preparazione dell'associazione della presente invenzione, quando è in forma di dosaggio unitario comprende da 4,0 g a 0,30 g

di L-carnitina sale interno, da 0,20 a 2,0 g di acetil L-carnitina sale interno, e da 0,20 g a 2,0 g di propionil L-carnitina sale interno, oppure una quantità equimolare di un loro sale farmaceuticamente accettabile.

La preparazione dell'associazione preferita, in forma di dosaggio unitario, comprende 2 g di L-carnitina sale interno, 1 g di acetil L-carnitina sale interno, e 0,5 g di propionil L-carnitina sale interno, oppure una quantità equimolare di un loro sale farmaceuticamente accettabile.

È stato comunque trovato che, benché la dose giornaliera dei citati principi attivi che verranno somministrati dipenda dall'età, dal peso e dalle condizioni del paziente, utilizzando l'esperienza professionale, è in genere consigliabile somministrare in una singola dose o a dosi multiple, da 0,3 a 4,0 g/giorno circa di L-carnitina, da 0,20 a 2,0 g/giorno circa acetil L-carnitina, e da 0,20 a 2,0 g/giorno circa di propionil L-carnitina, oppure una quantità equimolare di un loro sale farmaceuticamente accettabile.

Dosi maggiori potranno essere somministrate grazie alla tossicità estremamente bassa di detti principi attivi.

Viene di seguito riportato uno studio clinico effettuato per valutare se l'associazione secondo l'invenzione migliori la motilità spermatica, ed il numero degli spermatozoi, rispetto alla terapia combinata tra L-carnitina ed acetil L-carnitina.

I pazienti arruolati dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione/esclusione.

11

Criteri di inclusione: maschi giovani, infertili con asteno-zoospermia riconosciuta come la sola causa di infertilità da almeno due anni; i parametri seminali che dovevano essere soddisfatti in almeno due campioni furono: concentrazione spermatica (M/ml) da 10-20, motilità (%) >20 <40 a 2 ore, progressione lineare rapida (%) <20 a 2 ore. I pazienti vennero sottoposti ad anamnesi, ecocolor-doppler scrotale bilaterale, esame obbiettivo, dosaggi ormonali (testosterone libero e totale, FSH, LH, 17 beta estradiolo, progesterone, prolattina), spermiogramma (WHO 1999).

Criteri di esclusione: flogosi genitale acuta, concentrazione spermatica <5.000.000/ ml. Tutti i pazienti diedero il loro consenso informato a questo studio in aperto. In tutto vennero esaminati 8 pazienti con varicocele (6 di II grado, 2 di III), 12 pazienti con flogosi cronica delle ghiandole sessuali, 12 pazienti con varicocele (8 di II grado, 4 di III) + flogosi cronica delle ghiandole sessuali, 25 con oligoastenospermia criptogenetica, 2 con ipogonadismo ipogonadotropo, 1 con iperprolattinemia, 4 con pregressa chirurgia (criptorchidia monolaterale 3 casi, bilaterale 1 caso) 2 con trauma testicolare bilaterale.

Il seme venne ottenuto tramite masturbazione dopo almeno quattro giorni di astinenza al sesso. I campioni vennero analizzati entro un ora dalla eiaculazione per tutti i parametri, usando i metodi "standard" raccomandati dal WHO (1987). La motilità spermatica venne studiata usando un analizzatore della motilità computerizzato su almeno due campioni.

L'analisi del seme e la valutazione della motilità vennero effettuati prima del trattamento con i composti in studio, e dopo 4 mesi di trattamento con gli stessi.

La L-carnitina venne somministrata alla dose di 2 g/giorno (2 compresse da 500 mg due volte al giorno, dopo pranzo) per 4 mesi; la acetil L-carnitina venne somministrata alla dose di 1 g/giorno, per 4 mesi, mentre la propionil L-carnitina venne somministrata alla dose di 500 mg/ giorno, per 4 mesi.

L'associazione secondo l'invenzione aumenta significativamente la concentrazione e la motilità degli spermatozoi come anche la percentuale degli spermatozoi con progressione lineare rapida rispetto al trattamento con l'associazione L-carnitina e acetil L-carnitina, indipendentemente dalla causa della oligoastenoteratospermia, anche nei pazienti con alterazioni ormonali.

In questi ultimi l'associazione secondo l'invenzione ha permesso una riduzione della posologia delle gonadotropine o dei farmaci antiprolattinemici rispetto a quanto è riportato in letteratura.

Il medicamento della presente invenzione può essere preparato miscelando i principi attivi (L-carnitina sale interno, acetil L-carnitina sale interno e propionil L-carnitina sale interno o un loro sale farmacologicamente accettabile) con eccipienti idonei per la formulazione di composizioni per la somministrazione enterale (particolarmente la somministrazione orale) o parenterale (particolarmente la via intramuscolare o intravenosa). Detti eccipienti sono noti all'esperto in tecnologie farmaceutiche.

I sali farmaceuticamente accettabili dei citati principi attivi includono tutti i sali farmaceuticamente accettabili che sono preparati per addizione di un acido alla L-carnitina, all'acetil L-carnitina ed alla propionil L-carnitina sale interno, e che non danno origine a indesiderati effetti tossici o collaterali. La formazione di sali per addizione acida è ben nota in tecnologia farmaceutica.

Esempi non limitativi di tali sali sono: cloruro, bromuro, orotato, aspartato, aspartato acido, citrato, citrato acido, magnesio citrato, fosfato, fosfato acido, fumarato, fumarato acido, magnesio fumarato, glicerofosfato, lattato, maleato e maleato acido, mucato, ossalato, ossalato acido, pamoato, pamoato acido, solfato, solfato acido, glucosio fosfato, tartrato, tartrato acido, magnesio tartrato, 2-amino etansolfonato, magnesio 2-amino etansolfonato, metansolfonato, colina tartrato e tricloroacetato, trifluoroacetato.

RIVENDICAZIONI

1. Uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina sali interni o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della oligoastenospermia.
2. Uso secondo la rivendicazione 1, per la preparazione di un medicamento per il trattamento della oligospermia.
3. Uso secondo la rivendicazione 1, per la preparazione di un medicamento della astenospermia.
4. Uso secondo la rivendicazione 1, per la preparazione di un medicamento della teratospermia.
5. Uso di L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o dei loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della oligoastenospermia.
6. Uso secondo la rivendicazione 5, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della oligospermia.
7. Uso secondo la rivendicazione 5, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della astenospermia.
8. Uso secondo la rivendicazione 5, per la preparazione di una composizione nutrizionale per il trattamento della teratospermia.
9. Uso secondo la rivendicazione 1 o 5 in cui il sale farmacologicamente accettabile è scelto nel gruppo consistente di: cloruro, bromuro, orotato, aspartato, aspartato acido, citrato, citrato acido, magnesio citrato, fosfato, fosfato acido, fumarato, fumarato acido,

magnesio fumarato, glicerofosfato, lattato, maleato e maleato acido, mucato, ossalato, ossalato acido, pamoato, pamoato acido, solfato, solfato acido, glucosio fosfato, tartrato, tartrato acido, magnesio tartrato, 2-amino etansolfonato, magnesio 2-amino etansolfonato, metansolfonato, colina tartrato, tricloroacetato e trifluoroacetato.

10. Uso secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui la L-carnitina, la acetil L-carnitina e la propionil L-carnitina sali interni o i loro sali farmaceuticamente accettabili sono in miscela fra loro oppure sono confezionati separatamente.

11. Uso secondo la rivendicazione 10, in cui il rapporto molare tra L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o i loro sali farmaceuticamente accettabili è da 2,48:0,098:0,092 a 0,186:0,98:0,92.

12. Uso secondo la rivendicazione 10, in cui il rapporto molare tra L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o i loro sali farmaceuticamente accettabili è da 2,48:0,49:0,46 e 0,62:0,49:0,46.

13. Uso secondo la rivendicazione 10, in cui il rapporto molare tra L-carnitina, acetil L-carnitina e propionil L-carnitina o i loro sali farmaceuticamente accettabili è da 2,48:0,98:0,92 a 1,24:0,49:0,23.

14. Uso secondo la rivendicazione 11, in cui il medicamento o la composizione nutrizionale sono sotto forma di dosaggio unitario che comprende L-carnitina sale interno in quantità da 4,0 g a 0,30 g,

acetil L-carnitina sale interno in quantità da 0,20 a 2,0 g, e propionil L-carnitina sale interno in quantità da 0,20 g a 2,0 g, oppure quantità equimolari di loro sali farmaceuticamente accettabili.

15. Uso secondo la rivendicazione 14, in cui la forma di dosaggio unitario comprende 2 g di L-carnitina sale interno, 1 g di acetil L-carnitina sale interno e 0,5 g di propionil L-carnitina sale interno o quantità equimolari di loro sali farmaceuticamente accettabili.

p.i. di SIGMA-TAU HEALTHSCIENCE S.p.A.

Dott. Fabio Cavattoni

